

平成 30 年 9 月 13 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09198

研究課題名(和文)Optical biopsyを利用した間質性肺炎の非侵襲的病理診断法の確立

研究課題名(英文)Non-invasive pathological imaging of interstitial pneumonia using probe type confocal laser endomicroscopy

研究代表者

今泉 和良 (Imaizumi, Kazuyoshi)

藤田保健衛生大学・医学部・教授

研究者番号：50362257

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：プローブ型共焦点顕微鏡(pCLE)を用いたびまん性肺疾患の病理診断法の確立を目的として、気管支鏡下pCLEで末梢肺を観察した。UIPでは自家蛍光が全体に減弱し肺胞壁も断片化、圧縮している所見が多くNSIPの肺胞壁は圧縮所見が中心で断片化の所見が少なかった。外科的肺生検標本を用いたpCLE観察では肺胞壁の不規則変化、構造変化、不規則な肺胞圧縮がUIPに特徴的な所見として抽出された。肺胞蛋白症例の早期例に対するpCLE画像では蛍光の増強した巨大細胞群、肺胞内を流動する淡い蛍光を有する無構造物質、非常に細い線状所見が極めて特徴的な所見として抽出できた。

研究成果の概要(英文)：We investigated probe type confocal laser microendoscopy images of diffuse lung diseases including UIP and NSIP. In UIP, auto-fluorescence of peripheral lung was significantly reduced than NSIP. Fragmentation of alveolar fluorescence was more observed in UIP than NSIP. In contrast, regular compression of alveolar wall was more observed in NSIP. pCLE imaging study of surgical biopsy specimens revealed that irregular alveolar wall changes, alveolar remodeling, and irregular alveolar compression are specific findings for UIP.

In cases with pulmonary alveolar proteinosis, we could confirm disease specific findings (giant alveolar cells with strong auto-fluorescence, amorphous fluid with weak fluorescence, and thin alveolar walls) even in early stage of the disease.

These findings suggest pCLE imaging could be a promising and non-invasive diagnostic tool for diffuse lung diseases.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：間質性肺炎 共焦点レーザー顕微鏡 内視鏡診断

1. 研究開始当初の背景

間質性肺炎の治療方針決定や予後の推定には病理所見による病型分類が必須である。しかし病理診断には十分な組織採取を必要とするため、一般的には外科的肺生検など侵襲的な検査が必要であり、全ての症例に施行することは不可能である。また外科的侵襲のあとに間質性肺炎の急性増悪が招来されることも知られている。プローブ型共焦点レーザー顕微鏡 (probe-based confocal laser endomicroscopy: pCLE) は内視鏡の鉗子口から挿入可能で、生体局所の微細構造を蛍光にてリアルタイムに観察するシステムであり、消化管粘膜を中心に応用が進んでいる。肺では肺胞壁、気管支壁のエラスチンと肺胞マクロファージの自家蛍光を中心に観察でき、肺の任意の場所を、極めて低侵襲に何度でも観察することができる (optical biopsy)。肺胞領域のエラスチン蛍光は肺胞壁と血管壁の弾性線維を映し出すので、optical biopsy によって肺胞の形状、圧縮、破壊の程度を直接観察できる (図1)。慢性間質性肺炎病理像で観察される dense fibrosis 部では様々な程度で弾性線維が圧縮あるいは断裂していることが知られており、特に UIP では肺胞壁の破壊、リモデリングが強く進んでいるとされている。そこで CT で線維化の進行した部位をあらかじめ同定しておき、optical biopsy にてエラスチンの量や発現パターンを評価することで UIP 特異的な所見を同定できる可能性が考えられる。また肺胞マクロファージをはじめとする肺胞内の炎症細胞のリアルタイムの観察により他のびまん性肺疾患の病理診断にも本法は応用出来る可能性がある。

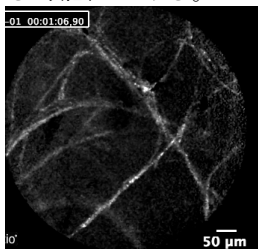


図1 肺胞 pCLE 像

2. 研究の目的

慢性線維性間質性肺炎において、optical biopsy によるエラスチン発現パターンと実際の病理所見を対比させることで主に UIP に特徴的な所見を確立し UIP と NSIP 他の慢性線維化病態を鑑別する補助的診断となり得るかを検討する。また他のびまん性間質性肺疾患についても、特徴的な所見を抽出し新たな診断法確立の端緒とする。

3. 研究の方法

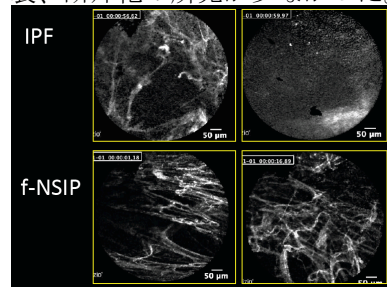
文書による同意を得た間質性肺炎症例において気管支鏡検査を施行する際に気管支鏡 working channel から pCLE プローブ

(Cellvizio Alveoflex®, Mauna Kea Technologies, Paris, France) を挿入し動画記録を行った。また胸腔鏡下生検を行った症例においては生検直後の標本に直接プローブを接触させ pCLE 観察を行った。保存された動画は画像解析ソフト (Cellvizio Viewer1.6.1, Mauna Kea Technologies) を用いて解析した。

4. 研究成果

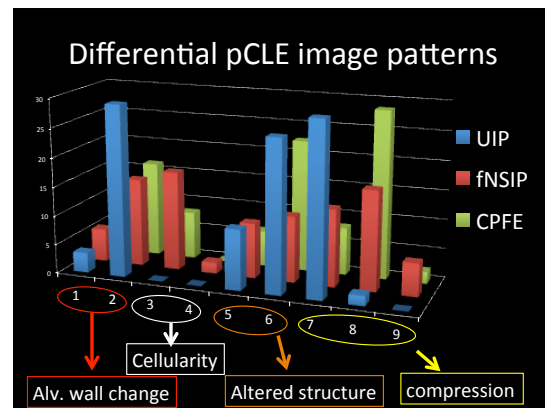
a. 各種びまん性肺疾患における pCLE リアルタイム所見

プローブ型共焦点レーザー顕微鏡 (probe type confocal microendoscopy: pCLE) を用いて間質性肺炎を中心としてびまん性肺疾患を解析した。気管支鏡検査施行時に pCLE による観察を同時に行い、画像集積と解析を行った。その結果、UIP では末梢肺の自家蛍光が減弱しており肺胞壁が断片化、圧縮している所見が多かった。これに対して NSIP, OP では肺胞内のマクロファージの自家蛍光が強く細胞数も増加していた。肺胞壁は NSIP では圧縮所見があるものの UIP に比較して断裂、断片化の所見が少なかった。(図2)



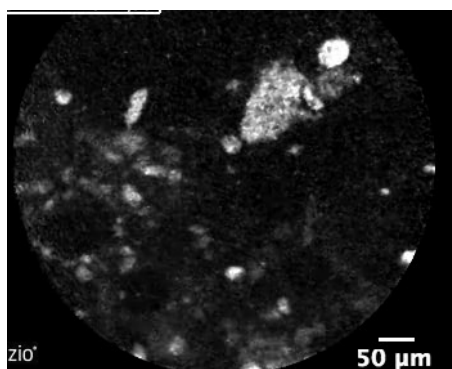
b. 慢性線維性間質性肺炎 UIP, fibrotic NSIP の病理像と pCLE 像の対比 (鑑別診断への応用)

これらの所見を確認するために外科的 (VATS) 肺生検標本を採取直後に pCLE を用いて観察した。肺胞壁の変化、肺胞内細胞所見、構造改変所見、肺胞圧排所見の4項目にわけて、UIP/f NSIP および CPFE (肺気腫・線維症の合併) に限定して比較した。肺胞壁の不規則変化、構造改変所見、不規則な肺胞圧縮が UIP に特徴的な所見として抽出された。(図3)



c. 肺胞蛋白症の pCLE による診断法確立
 また、肺胞蛋白症例（特に早期例）に対して pCLE 画像と病理、画像所見との比較解析を行った。肺胞蛋白症の早期例では CT 上、crazy pavement appearance 所見を呈する小病変部が散在しているのみであり、気管支超音波技術（EBUS-ガイドシース法）によって正確に病変部に到達し pCLE 画像を記録した。病変部では、蛍光発色の増強した巨大細胞群、肺胞内を流動する淡い蛍光を有する無構造物質、非常に細い線状所見が特徴的に見られ（図 4）、それぞれ泡沫状巨大マクロファージ、肺胞内 PAS 陽性物質、線維化を来していない肺胞壁に相当する所見と考えられた。このように肺胞蛋白症では pCLE による極めて特徴的な所見を得る事ができ、pCLE 画像のみで確定診断と出来る事が考えられた。また肺胞蛋白症は初期段階から、病変部には進行期と同じ病態が形成されていることも示唆された。

(図 4)



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 14 件)

- (1) Horiguchi T, Minezawa T, Okamura T, Sakakibara Y, Morikawa S, Gotoh Y, Souma T, Akao K, Watanabe T, Uozu S, Goto Y, Hayashi M, Isogai S, Imaizumi K. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial biopsy for ground-glass opacity-predominant nodules in the lung periphery. (査読あり)
 Fujita Medical Journal 4(1), 11-16. 2018
- (2) Uozu S, Imaizumi K, Yamaguchi T, Goto Y, Kawada K, Minezawa T, Okamura T, Akao K, Hayashi M, Isogai S, Okazawa M, Hashimoto N, Hasegawa Y. Feasibility of tissue re-biopsy in non-small cell lung cancers resistant to previous epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor therapies. (査読あり)
 BMC Pulm Med. 17(1):175. 2017
- (3) Hayashi M, Imaizumi K, Hattori H, Toyama H, Okazawa M. Wheezing and dyspnoea caused by aberrant left innominate artery. (査読あり)

Respirol Case Rep. 5(6):e00273. 2017

- (4) Yamaguchi T, Sakurai K, Kuroda M, Imaizumi K, Hida T. Different Response to Nivolumab in a Patient with Synchronous Double Primary Carcinomas of Hypopharyngeal Cancer and Non-Small-Cell Lung Cancer. (査読あり)
 Case Rep Oncol. 10(3):802-808. 2017
- (5) Kojima S, Sakakibara H, Hayashi M, Mieno Y, Matsushita K, Hirata M, Sasaki F, Omura I, Imaizumi K, Hashimoto S. Association of adenotonsillar hypertrophy and its treatment in childhood with risk of obstructive sleep apnea syndrome in adult Japanese male factory workers (査読あり)
 Fujita Medical Journal 3(2): 24-27. 2017
- (6) Kimura M, Hashimoto N, Kusunose M, Aoyama D, Sakamoto K, Miyazaki S, Ando A, Omote N, Imaizumi K, Kawabe T, Hasegawa Y. Exogenous induction of unphosphorylated PTEN reduces TGFβ-induced extracellular matrix expressions in lung fibroblasts. (査読あり)
 Wound Repair Regen. 25(1):86-97.2017
- (7) Yamaguchi T, Uozu S, Isogai S, Hayashi M, Goto Y, Nakanishi T, Imaizumi K. Short hydration regimen with magnesium supplementation prevents cisplatin-induced nephrotoxicity in lung cancer: a retrospective analysis. (査読あり)
 Support Care Cancer. 25(4):1215-1220. 2017
- (8) Isogai S, Niwa Y, Yatsuya H, Hayashi M, Yamamoto N, Okamura T, Minezawa T, Goto Y, Yamaguchi T, Takeyama T, Sakakibara Y, Morikawa S, Horiguchi T, Gotoh Y, Mieno Y, Uozu S, Nakanishi T, Okazawa M, Sakakibara H, Imaizumi K. Increased airway hyperresponsiveness to adenosine in patients with aspirin intolerant asthma. (査読あり)
 Allergol Int. 66(2). 360-362. 2017
- (9) Morikawa S, Okamura T, Minezawa T, Goto Y, Hayashi M, Yamaguchi T, Isogai S, Mieno Y, Yamamoto N, Uozu S, Nakanishi T, Okazawa M, Imaizumi K. A simple method of bronchial occlusion with silicone spigots (Endobronchial Watanabe Spigot; EWS®) using a curette. (査読あり)
 Ther Adv Respir Dis. 10(6) 518-524. 2016;
- (10) Morishita-Katsu M, Nishimura K, Taniguchi H, Kimura T, Kondoh Y, Kataoka K, Ogawa T, Watanabe F, Arizono S, Nishiyama O, Nakayasu K, Imaizumi K, Hasegawa Y.

The COPD assessment test and St George's Respiratory Questionnaire: are they equivalent in subjects with COPD? (査読あり)
Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 11:1543-51. 2016

- (1 1) Okachi S, Imai N, Imaizumi K, Iwano S, Ando M, Hase T, Aso H, Morise M, Wakahara K, Ito S, Hashimoto N, Sato M, Kondo M, Hasegawa Y.

Factors Affecting the Diagnostic Yield of Transbronchial Biopsy Using Endobronchial Ultrasonography with a Guide Sheath in Peripheral Lung Cancer. (査読あり)
Intern Med. 55(13):1705-12. 2016

- (1 2) Ando Y, Hayashi T, Ujita M, Murai S, Ohta H, Ito K, Yamaguchi T, Funatsu M, Ikeda Y, Imaizumi K, Kawada K, Yasuda K, Yamada S.

Effect of renal function on pemetrexed-induced haematotoxicity. (査読あり)
Cancer Chemother Pharmacol. 78(1):183-9. 2016

- (1 3) Kohnoh T, Hashimoto N, Ando A, Sakamoto K, Miyazaki S, Aoyama D, Kusunose M, Kimura M, Omote N, Imaizumi K, Kawabe T, Hasegawa Y.

Hypoxia-induced modulation of PTEN activity and EMT phenotypes in lung cancers. (査読あり)
Cancer Cell Int. 16:33. eCollection 2016.

- (1 4) Morikawa S, Okamura T, Yamaguchi T, Minezawa T, Goto Y, Takeyama T, Sakakibara Y, Niwa Y, Horiguchi T, Gotoh Y, Soma T, Watanabe T, Akao K, Mieno Y, Yamamoto N, Uozu S, Hayashi M, Isogai S, Nakanishi T, Imaizumi K

Clinical features of primary lung cancer presenting as pulmonary consolidation mimicking pneumonia (査読あり)
Fujita Medical Journal 2 (1), p17-21, 2016

[学会発表] (計 9 件)

- (1) Horiguchi T, Okamura T, Minezawa T, Imaizumi K

Endobronchial ultra-sound guided transbronchial biopsy for ground-glass opacity-predominant nodules in the lung periphery
22nd Congress of Asian Pacific Society of Respiriology, Sydney, 2017

- (2) Souma T, Okamura T, Minezawa T, Morikawa S, Goto Y, Hayashi M, Isogai S, Imaizumi K

Probe-Based Confocal Laser Endomicroscopy (pCLE) Combined with Endobronchial Ultra Sound (EBUS) for Early Stage Pulmonary Alveolar Proteinosis
ATS (AMERICAN THORACIC SOCIETY) WASHINGTON DC, USA 2017

- (3) Imaizumi K, Okamura T, Souma T, Minezawa T, Morikawa S, Goto Y, Hayashi M, Yamaguchi T, Isogai S

Optical Biopsy Using Probe-Based Confocal Endomicroscopy (pCLE) in the Differential Diagnosis of Chronic Fibrotic Interstitial Pneumonia
ATS (AMERICAN THORACIC SOCIETY) WASHINGTON DC, USA 2017

- (4) 今泉和良

プローブ型共焦点レーザー顕微鏡 (pCLE) によるびまん性肺疾患診断
第 161 回日本呼吸器内視鏡学会 関東支部会特別講演 東京 2017

- (5) 森川紗也子, 岡村拓哉, 峯澤智之, 山口哲平, 丹羽義和, 堀口智也, 後藤祐介, 相馬智英, 赤尾 謙, 渡邊俊和, 後藤康洋, 磯谷澄都, 中西 亨, 今泉和良

nivolumab による間質性肺炎の気管支肺胞洗浄所見
第 40 回日本呼吸器内視鏡学会学術集会 ワークショップ 長崎 2017

- (6) 丹羽義和, 磯谷澄都, 峯澤智之, 岡村拓哉, 森川紗也子, 相馬智英, 渡邊俊和, 赤尾 謙, 前田真吾, 井上敬浩, 堀口智也, 後藤祐介, 山口哲平, 魚津桜子, 後藤康洋, 中西 亨, 今泉和良

当院での気管支サーモプラスチック施行症例の検討
第 40 回日本呼吸器内視鏡学会学術集会 ビデオワークショップ 長崎 2017

- (7) 今泉和良, 岡村拓哉, 峯澤智之, 森川紗也子, 丹羽義和, 堀口智也, 後藤祐介, 相馬智英, 赤尾 謙, 渡邊俊和, 山口哲平, 後藤康洋, 磯谷澄都, 中西 亨

プローブ型共焦点レーザー顕微鏡下肺胞マクロファージのリアルタイム観察による間質性肺炎の鑑別診断
第 40 回日本呼吸器内視鏡学会学術集会 長崎 2017

- (8) Imaizumi K, Okamura T, Minezawa T, Morikawa S, Niwa Y, Yamaguchi T, Uozu S, Goto Y, Hayashi M, Isogai S, Nakanishi T

Probe-based Confocal Laser Endomicroscopy (pCLE) for Early Stage Pulmonary Alveolar Proteinosis
19th WCBIP/WCBE World Congress, Florence, Italy 2016

- (9) 今泉和良

びまん性肺疾患に対する共焦点レーザー内視鏡
第 39 回日本呼吸器内視鏡学会学術集会 ラ

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

<http://kokyuki-fujita.net/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今泉 和良 (Imaizumi Kazuyoshi)

研究者番号：(50362257)

藤田保健衛生大学医学部・呼吸器内科学 I・
教授

(2) 研究分担者

磯谷 澄都 (Isogai Sumito)

研究者番号：(10351032)

藤田保健衛生大学医学部・呼吸器内科学 I・
講師